

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 52-083940  
(43)Date of publication of application : 13.07.1977

---

(51)Int.Cl. A61K 31/195  
A61K 31/405  
A61K 31/415

---

(21)Application number : 51-000233 (71)Applicant : KAKEN PHARMACEUT CO LTD  
(22)Date of filing : 01.01.1976 (72)Inventor : INOUE YUKIO  
ZAMA KATSUYUKI  
SUZUKI SOJI

---

## (54) IMMUNO-INHIBITOR

### (57)Abstract:

PURPOSE: D-Amino acids having high immuno-inhibiting effect against the diseases originated from antigen-antibody reaction, such as rejection by the implantation of organs, chronic arthrorheumatism, bulbospinal paralysis, etc., and nevertheless low toxic.

---

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]  
[Date of sending the examiner's decision of rejection]  
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]  
[Date of final disposal for application]  
[Patent number]  
[Date of registration]  
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]  
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]  
[Date of extinction of right]



⑨日本国特許庁

⑩特許出願公開

## 公開特許公報

昭52—83940

⑤Int. Cl. <sup>2</sup>	識別記号	⑥日本分類	庁内整理番号	④公開	昭和52年(1977)7月13日
A 61 K 31/195	A B C	30 G 127.11	7043—44	発明の数	1
A 61 K 31/405	A B C	30 G 133.21	7043—44	審査請求	未請求
A 61 K 31/415	A B C	30 G 133.11	7043—44		
		30 H 211	5921—44		

(全 4 頁)

⑤免疫抑制剤

埼玉県北葛飾郡鷺宮町鷺宮団地  
3の11の501

⑦特 願 昭51—233

⑦発 明 者 鈴木宗司

⑦出 願 昭51(1976)1月1日

岩槻市宮町1の9の18

⑦発 明 者 井上行雄

⑦出 願 人 科研化学株式会社

東京都世田谷区宮坂1の19の20

東京都文京区本駒込2の28の8

同 座間克征

⑦代 理 人 弁理士 小林正雄

## 明 細 書

## 発明の名称

免疫抑制剤

## 特許請求の範囲

α-アミノ酸のD-異性体を有効成分として含有することを特徴とする免疫抑制剤。

## 発明の詳細な説明

本発明はα-アミノ酸のD-異性体を有効成分とする新規な免疫抑制剤に関する。

抗原抗体反応に基づく疾患としては、たとえば下記のもの知られている。腎移植、皮膚移植等の臓器移植の際の拒絶反応、各種腎疾患、甲状腺疾患、慢性関節リウマチ、血小板減少症、全身性エリテマトーデス、重症筋無力症、各種呼吸器疾患、ルポイド肝炎症、胃その他の自己免疫疾患、潰瘍性大腸炎、血管炎、アトピー性皮膚炎、多発性筋炎、強皮症、脱髄性脳疾患等。

これらの疾患の治療に用いられる従来の免疫抑制剤はいずれも多く欠点を有している。た

たとえば(1)副腎ホルモン剤については血内圧亢進、関節の不安定化等、(2)アザチオプリンについては食欲不振、下痢などの胃腸障害、皮疹、脱毛、発熱、舌炎、心悸亢進、血液障害、大量投与による肝障害等、(3)シクロホスファミド(抗悪性腫瘍剤)については白血球減少、リンパ球減少、脱毛、食欲不振、一過性低血圧、腎障害、肝臓機能低下、黄疸、下痢、頭痛、不眠、出血傾向、血小板減少、貧血、口内炎、発熱、発疹等、(4)抗リンパ球血清については発熱、疼痛、再注射時のアナフラキシーショック等の副作用が知られている。

従来α-アミノ酸の光学異性体であるD-体は、微生物の代謝産物の一部の構成因子としてあるいは微生物細胞膜組成の構成成分として知られているが、高等動物に対するD-α-アミノ酸の利用法又は生理作用に関してはほとんど報告がない。

本発明者らは広く免疫抑制物質について検索を進めた結果、α-アミノ酸のD-異性体がきわめて高い免疫抑制効果を示し、しかも低毒性

であることを見出した。

本発明はこの知見に基づくもので、 $\alpha$ -アミノ酸のD-異性体を有効成分として含有することを特徴とする免疫抑制剤である。

本発明に用いる $\alpha$ -アミノ酸のD-異性体としては、たとえばアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、スレオニン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、ノチオニン、チロシン、フェニルアラニン、ヒスチジン、トリプトファン、シスチン、システイン、アルギニン、プロリン、ヒドロキシアミノ酸、リジン、グリシン、エチオニン等のD-異性体が用いられる。

これらの化合物は既知の物質であつて、下記文献に記載の方法により又はこれに準ずる方法により得られる。アンナーレン・デル・ヘミー 130 巻 217 頁 (1964 年)、ツァイトシュリフト・フュール・フィジオロギッシェ・ヘミー 17 巻 513 頁 (1893 年) 及びジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー 19 巻 707 頁 (1937 年)。なおこれらの

特開 昭52-83940(2)

化合物は遊離型のほか、その塩、エステル、ラクトム、アミド、アシル化物等の単純な誘導体としても用いられ、2 種以上併用することもできる。

本発明の免疫抑制剤は経口投与、静脈注射、筋肉注射、皮下注射、皮内注射あるいは塗布のいずれの方法によつても投与できるが、経口投与、静脈注射又は筋肉注射が好ましい。

本発明の免疫抑制剤の投与量は、対象とする疾病の種類、程度等によつても異なるが、たとえば経口投与では体重 1kg 当り 1 日 0.1~500 ㎎ で有効である。

本剤は錠剤、カプセル剤、注射剤、シロップ、軟膏その他の一般的医薬製剤の形態で用いられる。また本剤は他の免疫抑制剤、ホルモン剤、抗生物質、制癌剤、抗炎症剤などと併用することもできる。たとえば錠剤を製造する場合の賦形剤としては炭粉、乳糖、結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム等が好ましい。

本発明の免疫抑制剤は毒性がきわめて低いというすぐれた性質を有し、免疫反応に起因する各種疾患の治療及び予防に有用である。

#### 試験例 1 体液性免疫能

体液性免疫能を測定するために、補体結合反

応を利用したカニンガム法 (1% ムノロジー、14 巻 599 頁、1968 年参照) で定置した。本法は血漿中の免疫グロブリン (1% ムノグロブリン M 及び D) を産生する脾臓中の抗体細胞を測定する方法であつて、抗体産生細胞と補体及び抗原 (羊血球) が反応して羊血球膜に損傷を与え、生じた溶血斑の数のより抗体産生能を測定することができる。

一群 5 匹の平均体重 23g の DDN 系マウス (雄) に、表 1 に示す D- $\alpha$ -アミノ酸類各 10 ㎎/kg を筋肉内投与し、24 時間後に抗原として羊血球 0.2 ml (濃度  $2.5 \times 10^8$  / ml) を腹腔内投与し、4 日間飼育したのちマウスを殺して脾臓を取出し、150 メッシュのステンレス製の金網を通過する細胞を 5 ml の最小イーグル培地に浮遊させて供試した。

抗体産生細胞を検出するため、上記の脾臓細胞浮遊液の 20 倍希釈液 50  $\mu$ l、羊血球浮遊液 50  $\mu$ l (濃度:  $10^8$  / ml) 及びモルモット新鮮補体液 50  $\mu$ l をよく混合し、両面テープで 2 枚のスライドガラスを貼り合わせた隙間に混合

液を入れ、空気と接触する部分をワックスで封じた。このスライドを 37℃ で 1 時間保温したのち、D- $\alpha$ -アミノ酸無投与群と投与群との溶血斑の数を算出して、抑制率を次式によつて求めた。その結果をまとめて表 1 表に示す。

$$\text{抑制率 (\%)} = \frac{\text{D-}\alpha\text{-アミノ酸投与抗体産生細胞数}}{\text{D-}\alpha\text{-アミノ酸無投与抗体産生細胞数}} \times 100$$

比較薬剤としてアザチオプリンを用い、同様に処理した。表 1 表の結果から各種 D- $\alpha$ -アミノ酸のうち特にバリン、ロイシン、ヒスチジン、アスパラギン、グルタミン酸、アラニン及びイソロイシンが高い抑制効果を示した。

50 ㎎/kg の D- $\alpha$ -グルタミン酸を経口投与して試験した結果も 40% の免疫抑制を示した。

また DDN 系マウスを用い、表 1 表に示す D- $\alpha$ -アミノ酸を腹腔内に投与し、常法により急性毒性試験を行つた結果を併せて表 1 表に示す。

表 1  
D-アミノ酸の体液性免疫抑制及び急性毒性

D-アミノ酸類	体液性免疫能		急性毒性 (1. p.) LD <sub>50</sub> (mg/kg)
	投与量 (mg/kg)	抑制率 (%)	
アラニン	10	43	5000
バリン	10	60	>6000
ロイシン	10	60	3000
イソロイシン	10	41	>6000
セリン	10	14	4000
スレオニン	10	14	>6000
アスパラギン酸	10	37	1000
アスパラギン	10	47	>6000
グルタミン酸	10	40	3000
グルタミン	10	30	>6000
メチオニン	10	6	>6000
チロシン	10	36	>6000
フェニルアラニン	10	34	>6000
ヒスチジン	10	50	5000

の腹部の毛をカミソリで25×15mmの長方形にそり落とした。次いで7%塩化ビクリルエチルアルコール溶液1mlを40×20×2mmのカット綿に含ませて、毛をそった部分の皮膚に塗布し、感作後7日目に皮膚反応の標準値として感作マウスの両耳の厚さをシツクネスゲージで測定した。

(2) 二次感作

次いで10%塩化ビクリル-オリーブ油0.1mlを10×5×1mmのカット綿に含ませて両耳の表裏に塗布した。対照マウスにも同様に処置を行った。24時間後に両耳の厚さをシツクネスゲージで測定した。その結果を表2表に示す。

トリプトファン	10	28	5000
アザチオプリン (イムラン)	10	25	610
	100	51	

試験例2 細胞性免疫能

遅延型過敏症、接触アレルギー、移植免疫、ある種の感染症に対する抵抗性、腫瘍免疫又は自己免疫の発現に細胞性免疫が関与していることは周知の事実である。そこでD-α-アミノ酸の細胞性免疫に与える効果の判定を塩化ビクリル法(イムノロジー1.5巻、406頁、1968年及び17巻、769頁、1969年参照)により検討した。本法は塩化ビクリルが生体の蛋白と結合して抗原となるハプテン型抗原によつて発現される遅延型皮膚反応を、シツクネスゲージで測定する方法である。

(1) 一次感作

一群10匹の平均体重約25gのICRマウス(雄)に、D-グルタミン酸及び比較薬剤としてアザチオプリンをそれぞれ1.0mg/kg及び50mg/kg筋肉投与し、24時間後にマウス

表 2

D-グルタミン酸による細胞性免疫の抑制効果

薬 剤 (mg/kg)	一次感作後の 実測値 (×10 <sup>-3</sup> cm)	二次感作後の 実測値 (×10 <sup>-3</sup> cm)
無投与 対照群	23.0±1.6	29.4±1.9
D-グルタミ ン酸投与群	10 23.4±1.3	29.3±2.6
D-グルタミ ン酸投与群	50 23.3±1.0	27.1±1.4**
アザチオプリ ン投与群	50 23.1±1.2	27.5±1.8**

対照群の耳の厚さより薄ければ、細胞性免疫抑制効果があると判定されるが、表2表の結果から、一次感作後の各群の実測値に対し二次感作後の対照群の実測値は「高度に有意」という結果が得られた。従つて二次感作後の無投与対照群

特開 昭52-83940(4)

とD-グルタミン酸投与群及びアザチオプリン投与群とを比較することは可能である。これらの各群の二次感作後の実測値を有意差検定した結果、D-グルタミン酸の50mg/kg投与群とアザチオプリンの50mg/kg投与群が高度に有意という結果が得られた。これによつてD-グルタミン酸は細胞性免疫の抑制効果が優れていることが認められた。

## 実施例 1

D-グルタミン酸100gに澱粉200gを加え、全量を300gとしてよく撈拌したのち錠剤機により錠剤とする。

## 実施例 2

ロイシン2gを等張生理食塩水100mlに溶解し、無菌的にアンプルに分注して注射剤とする。

出願人 科研化学株式会社

代理人 弁理士 小林 正 雄

昭 58 3.23 発行

## 特許法第17条の2の規定による補正の掲載

## 手 続 補 正 書(自発)

昭和 57 年 12 月 23 日

昭和 51 年特許願第 233 号(特開昭  
52-83940 号 昭和 52 年 7 月 13 日  
発行 公開特許公報 52-840 号掲載)につ  
いては特許法第17条の2の規定による補正があっ  
たので下記のとおり掲載する。 3(2)

特許庁長官 若 杉 和 夫 殿

1. 事件の表示 特願昭 51-233 号

2. 発明の名称 ノンエキソクセイダイ  
免疫抑制剤3. 補正をする者  
事件との関係 特許出願人住 所  
氏 名 カケンカガク  
科 研 化 学 株 式 会 社  
(名 称)

4. 代 理 人

住 所 東京都港区虎ノ門1丁目16番9号 双葉ビル  
氏 名 弁護士(6404) 小 林 正 雄  
〒105 電 話 (591) 0914

5. 補正命令の日付

昭和 年 月 日

6. 補正により増加する発明の数

7. 補正の対象 明細書

8. 補正の内容 別紙訂正書のとおり

Int. Cl.	識別記号	序内整理番号
A61K 31/195	ABC	6408-4C
31/405	ABC	6408-4C
31/415	ABC	6408-4C

## 訂 正 書(特願昭 51-233 号)

明細書中下記の訂正を行う。

- 第2頁下から8行の「代謝産物」を「代謝産物」に改める。
- 第9頁10行の「綿に含まで」を「綿に含ませて」に改める。

